



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS QUITINOLÍTICAS RUMINALES

Javier Piloni Martini, Mario A. Cobos Peralta, Ninfa Ramírez Durán, Ma. Esther Ortega Cerrilla, Sergio S. González Muñoz, J. Efrén Ramírez Bribiesca, David Hernández Sánchez, Obdulia L. Segura León

Javier Piloni Martini responsable chipiloni@hotmail.com, fax 01 775 753 3495 Ext. 4610

Palabras clave: *Cáscara de camarón, quitina, bacterias ruminales*

Introducción Los rumiantes pueden degradar y asimilar los nutrientes contenidos en el exoesqueleto o caparazón de camarón y cangrejo, debido a la presencia de bacterias ruminales que usan la quitina como sustrato. En México se recolectan 61 mil t de camarón de mar y 61 mil t de camarón de granja, cantidad que aumentó 40% respecto al año 2003. En el proceso de extracción de la carne se genera aproximadamente 100 mil t anuales de caparazón de cangrejo y camarón. Es común observar su acumulación en el mar y en lugares cercanos a las cooperativas camaroneras, lo que ha provocado problemas de contaminación ambiental. Considerando el valor nutritivo del caparazón de camarón, se considera que su uso en la alimentación de rumiantes puede ayudar a solucionar el problema de contaminación ambiental sin que se afecte negativamente la eficiencia productiva de los animales o la rentabilidad de una empresa ganadera. Para identificar bacterias ruminales es importante usar métodos basados en procedimientos de genética molecular que permiten detectar secuencias específicas del ADN de cada género y especie microbiana. El método usado en laboratorios de diagnóstico es el PCR (Polymerase Chain Reaction).

El propósito de este trabajo fue aislar y seleccionar bacterias ruminales quitinolíticas con alta capacidad para degradar quitina pura y caparazón de camarón a partir de un cultivo mixto obtenido de borregos alimentados con una dieta con 25% de caparazón de camarón. Además identificar genéticamente a la bacteria o bacterias que tengan la mayor capacidad para degradar quitina o caparazón de camarón.

Metodología. Para el aislamiento de bacterias quitinolíticas se utilizó líquido ruminal liofilizado (LRL) previamente obtenido de borregos (Suffolk X Corriedale) alimentados por 60 d con una dieta que contiene 25% (BS) de cáscara de camarón (1). La composición de los medios de cultivo selectivos líquidos y sólidos usados en el proceso fueron similares a lo reportado por (2). De las bacterias aisladas en los medios de cultivo sólido, se seleccionó un consorcio microbiano formado por dos bacterias que presentaron el mayor porcentaje de degradación de quitina pura (Sigma). Estas bacterias se caracterizaron por su morfología colonial, tamaño, tinción Gram y reacción catalasa. (Mac Faddin, 1993). La identificación, basada en una comparación de secuencias nucleótidas del rRNA 16S de las bacterias con secuencias nucleótidas depositadas en el Gen-Bank. (3).

Resultados y discusión De acuerdo a la identificación genética molecular, el bacilo fue identificado como *Bacillus licheniformis* con una semejanza del 99% y el cocobacilo fue identificado como bacteria ruminal ("Rumen bacterium") con una semejanza del 98%. El porcentaje de degradación de quitina y cáscara de camarón después de 72 h de incubación fue diferente ($p < 0.01$). El cocultivo formado por *Bacillus licheniformis* y bacteria ruminal quitinolítica presentó el mayor ($P < 0.01$) porcentaje de degradación de quitina (48.55%), y cáscara de camarón (33.7%); comparado con los medios de cultivo en los cuales se inocularon con cultivos puros de *B. licheniformis* (3.80, 3.83%) ó de la bacteria ruminal quitinolítica (5.73, 1.07%) respectivamente. Estos resultados indican que la actividad quitinolítica de estas bacterias depende de su interacción. Con relación a la bacteria ruminal quitinolítica identificada como "rumen bacterium" esta puede tratarse de una nueva bacteria ruminal. Pattnaik et al., 2001 aisló *Bacillus licheniformis* de rumen de búfalo.

Conclusiones. Los resultados obtenidos permiten estimar que el desarrollo de un inóculo alimenticio a base de *Bacillus licheniformis* y la bacteria ruminal quitinolítica aislada tiene potencial para su uso en dietas que contengan cáscara de camarón. Como resultado se espera reducir los problemas de contaminación ambiental que actualmente se tiene por la acumulación de cáscara de camarón en zonas costeras del país, donde se procesa camarón pelado para exportación y consumo nacional. Además el inóculo de estas bacterias puede asegurar la máxima digestión y asimilación de los nutrientes contenidos en la cáscara de camarón.

Agradecimiento. La presente investigación fue financiada en parte por la línea de investigación "Impacto y Mitigación del Cambio Climático", del Colegio de Posgraduados.

Bibliografía.

1. Cobos MA, Pérez-Sato M, Piloni-Martini J, González SS, Barcena JR. (2007). Evaluation of diets containing shrimp shell waste and an inoculum of *Streptococcus milleri* on rumen bacteria and performance of lambs. Anim Feed Sci Technol. 132:324-330.
2. Hungate RE. (1947). Studies on cellulose fermentation. III. The culture and isolation of cellulose-decomposing bacteria from the rumen of cattle. J Bacteriol. 53:631-645.1.
3. Dennis AB, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, and Wheeler DL. GenBank. Nucleic Acids Res. 2006; 34:16-20